



REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



Artigo original

Comparação entre o laser de baixa potência, ultrassom terapêutico e associação, na dor articular em ratos Wistar

Josinéia Gresele Coradini, Thiago Fernando Mattjie, Giovanni Ribeiro Bernardino, Ana Luiza Peretti, Camila Mayumi Martin Kakihata, Tatiane Kamada Errero, Assis Roberto Escher, Gladson Ricardo Flor Bertolini*

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil

INFORMAÇÕES

Histórico do artigo:

Recebido em 3 de abril de 2013

Aceito em 23 de junho de 2013

Palavras-chave:

Medição da dor

Terapia a laser de baixa intensidade

Terapia por ultrassom

RESUMO

Introdução: Tanto o ultrassom terapêutico quanto o laser de baixa potência são utilizados para o controle da dor musculoesquelética, apesar de controvérsias. Ainda, a literatura é pobre e também apresenta resultados controversos sobre efeitos cumulativos da associação de técnicas. Assim, o objetivo foi comparar os efeitos antinociceptivos do laser, do ultrassom e da associação destes.

Métodos: Foram utilizadas 24 ratas, divididas em: GPL – indução de hiperestesia no joelho direito, e não tratadas; GUS – ultrassom terapêutico (1 MHz, 0,4 W/cm²); GL – laser de baixa potência (830 nm, 8 J/cm²); GL+US – tratadas com as duas técnicas. Para a hiperestesia foram injetados no espaço tíbio-femoral 100 µl de solução de formalina 5%, e avaliada por filamento de von Frey digital, antes (AV1), 15 (AV2), 30 (AV3) e 60 (AV4) minutos após a indução.

Resultados: Na comparação dentro dos grupos, para o limiar de retirada quando o filamento foi aplicado nos joelhos, foi possível observar volta aos valores basais apenas para GUS. Nas comparações entre os grupos houve diferenças em AV3, sendo que GL foi maior do que PL. Em AV4 os três grupos tratados apresentaram valores maiores que o placebo. No limiar de retirada na superfície plantar GL mostrou retorno dos valores basais em AV3, e GUS e GL+US retornaram em AV4. Na comparação entre os grupos, em AV3 havia um limiar menor em GPL ao comparar com GL e GUS ($p < 0,05$), e em AV4 só havia diferenças ao comparar GPL com GUS.

Conclusão: Ambas as modalidades apresentaram efeitos antinociceptivos.

© 2014 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

* Autor para correspondência.

E-mail: gladson_ricardo@yahoo.com.br (G.R.F. Bertolini).

0482-5004/\$ - see front matter. © 2014 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2014.01.001>

Comparation of low level laser, ultrasonic therapy and association in joint pain in rats Wistar

A B S T R A C T

Keywords:

Pain measurement
Low level laser therapy
Ultrasonic therapy

Introduction: Both therapeutic ultrasound as a low level laser therapy are used to control musculoskeletal pain, despite controversy about its effects, yet the literature is poor and also presents conflicting results on possible cumulative effects of techniques association. The aim was to compare the antinociceptive effects of low level laser therapy, therapeutic ultrasound and the association.

Methods: 24 Wistar rats were divided into: GPL – induction of hyperesthesia in the right knee, and untreated; GUS – treated with therapeutic ultrasound (1 MHz, 0.4 W / cm²) GL – low intensity laser (830 nm, 8 J/cm²); GL+US – treated with both techniques. To produce the hyperesthesia 100 µl of 5% formalin solution were injected into the tibiofemoral joint space, which was assessed by von Frey filament digital before (EV1), 15 (EV2), 30 (EV3) and 60 (EV4) minutes after induction.

Results: In comparison within groups, for the withdrawal threshold when the filament was applied to the knee, the back to baseline was observed only for GUS. Comparisons between groups were not different in EV3, and GL was higher than GPL. In EV4 the three groups effectively treated were higher than placebo. On withdrawal threshold on the plantar surface, GL showed return to baseline values already in EV3, and GUS and GL+US returned in EV4. Comparing the groups in EV3 there was a significantly lower threshold to compare GPL with GL and GUS ($p < 0.05$), and there was only EV4 differences when comparing GPL with GUS.

Conclusion: Both modalities showed antinociceptive effects.

© 2014 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

Em casos de dor articular, como aquela advinda de quadros de osteoartrite de joelho, tem-se indicado, como forma de tratamento, o laser de baixa potência,¹ havendo relatos de benefícios tanto para quadros agudos quanto crônicos.² O efeito analgésico desta modalidade pode ocorrer por redução de mediadores do processo inflamatório,³ alterações na neurotransmissão⁴ e ainda por liberação de endorfinas endógenas.⁵ Contudo, em casos de dor profunda, em indivíduos com dor lombar aguda e crônica, Ay, Dogan e Evcik⁶ não observaram efeitos superiores do laser de baixa potência com relação ao placebo adicionado à termoterapia; e mesmo em casos de articular periféricas a literatura não apresenta consenso.⁷

O ultrassom provavelmente é o agente físico mais utilizado na prática clínica, sendo que seus efeitos podem ocorrer por aumento da temperatura ou pelos chamados agentes não térmicos, via cavitação e correnteza acústica.⁸ Também é uma modalidade que pode produzir redução da dor em casos de osteoartrite.^{9,10} Porém, os estudos, de forma semelhante aos do laser de baixa potência, mostram resultados conflitantes com relação aos efeitos.^{11,12}

Quando se busca avaliar a dor articular profunda, o modelo utilizando injeção de formalina se mostra válido, produzindo resultados confiáveis com relação a padrões comportamentais em animais de experimentação, possibilitando assim avaliar o efeito de diferentes formas de terapia que influenciam tais comportamentos, ou seja, reduzindo ou estimulando a nocicepção.¹³ Dessa forma torna-se interessante usar tal modelo para comparar efeitos de técnicas terapêuticas isoladas e as-

sociadas,¹⁴ e por isso o objetivo deste estudo foi comparar os efeitos antinociceptivos do laser de baixa potência, do ultrassom terapêutico e da associação destes, ou seja, o uso das duas técnicas utilizadas consecutivamente no mesmo animal.

Materiais e métodos

Grupos experimentais

Foram utilizadas 24 ratas, da linhagem Wistar, com massa de $296,10 \pm 33,25$ g, obtidas do Biotério Central da UNIOESTE, as quais permaneceram em gaiolas de polipropileno com livre acesso à água e à ração *ad libitum*, com ciclo claro/escuro de 12 horas e temperatura ambiente controlada ($24 \pm 1^\circ\text{C}$). O estudo foi conduzido segundo as normas internacionais de ética em experimentação animal, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal da UNIOESTE, sob o parecer nº 03512.

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos:

- Grupo 1 (GPL, $n = 6$) – composto por animais submetidos à indução de hiperestesia no joelho direito e não tratados, apenas submetidos ao contato com o transdutor do ultrassom e caneta laser;
- Grupo 2 (GUS, $n = 6$) – hiperestesia no joelho direito e tratados com ultrassom terapêutico;
- Grupo 3 (GL, $n = 6$) – hiperestesia no joelho direito e tratados com laser de baixa potência;
- Grupo 4 (GL+US, $n = 6$) – hiperestesia no joelho direito e tratados com as duas técnicas citadas.

Indução da hiperestesia

Para a indução da hiperestesia foi realizada tricotomia na face medial dos joelhos direitos e em seguida os animais foram contidos manualmente, injetando-se em seu espaço articular tíbio-femoral 100 µL de solução de formalina a 5%, para a indução de hiperestesia.¹³

Avaliação da nocicepção

Para avaliação da nocicepção foi utilizado o filamento de von Frey digital (Insight®), o qual testa a sensibilidade nociceptiva ao estímulo mecânico em animais.¹⁵ O teste foi realizado com o animal contido manualmente, e o filamento aplicado na face medial da articulação tíbio-femoral do membro posterior direito. A ponta de polipropileno do filamento foi aplicada perpendicularmente à área, com gradual aumento de pressão, e logo que o animal retirou o membro o teste foi interrompido para o registro do limiar de retirada.

Em seguida, o animal foi colocado em caixas de madeira com tampa em acrílico, sendo que a base da mesma é confeccionada em grade metálica vazada, pela qual foi possível inserir o filamento na região plantar das patas dos animais. Novamente foi realizada pressão com aumento gradual até o animal retirar o membro.

Os procedimentos de teste nociceptivo foram treinados durante cinco dias, sendo que no dia posterior ao último treino foram coletados os valores de retirada do membro antes da indução da hiperestesia (AV1), após 15 (AV2) e 30 (AV3) minutos e, por fim, após uma hora (AV4).

Protocolos de tratamento

Após a segunda avaliação foi iniciado o tratamento, ou seja, após 15 minutos da indução da hiperalgesia. G1 não sofreu qualquer intervenção terapêutica, apenas simulação.

Em G2 e G4 o tratamento consistiu na utilização do ultrassom (Ibramed®) com frequência de 1 MHz, cabeçote de 1 cm² de ERA, densidade de potência de 0,4 W/cm², de forma transcutânea, sobre a interlinha articular do joelho, com movimentos lentos, circulares, rítmicos.¹⁶

G3 e G4 receberam o laser de baixa potência 830 nm (Ibramed®), 30 mW de potência, com área de saída de 0,11600 cm², com fluência de 8 J/cm².¹⁷ Após a última avaliação os animais sofreram eutanásia por decapitação em guilhotina.

Análise estatística

Foi verificada a normalidade dos dados por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov, e em vista da normalidade dos mesmos foram analisados intragrupos pelo teste de ANOVA com medidas repetidas e unidirecional, para comparação entre os grupos. Em todos os casos o nível de significância aceito foi de 5%. Ainda, para o tamanho de amostra utilizado (seis animais por grupo), com desvio-padrão de 25 e diferença a ser detectada de 35 g, para um nível de significância de 5%, produz poder de teste de 80%. Foi calculado o tamanho do efeito para cada variável, considerando a força do efeito como pequena (valor de r de 0,10 a 0,29), média (valor de r de 0,30 a 0,49) e grande (valor de $r \geq 0,50$).

Resultados

Limiar de retirada – joelho

Para o limiar de retirada quando o filamento foi aplicado nos joelhos foi possível observar para GPL redução significativa do limiar ($P < 0,05$) (fig. 1A). Para GUS houve redução significativa do limiar em AV2 e AV3, quando comparados com AV1, porém para AV4 não havia diferença e, ainda, AV4 foi significativamente maior do que AV2 e AV3 (fig. 1B). Tanto para GL (fig. 1C) quanto para GL+US (fig. 1D) o comportamento foi semelhante àquele observado no grupo placebo.

Nas comparações entre os grupos foi possível observar diferenças em AV3 e AV4, sendo que em AV3 os valores de GL eram significativamente maiores do que PL ($P < 0,05$). Em AV4 os três grupos tratados efetivamente apresentaram valores maiores do que o placebo ($P < 0,05$), mas sem diferenças entre eles ($P > 0,05$). Na avaliação da homogeneidade das variâncias (teste de Levene) e tamanho do efeito foi possível observar, respectivamente, em AV1 $P = 0,144$ e 0,48, AV2 $P = 0,001$ e 0,23, AV3 $P = 0,675$ e 0,68, e AV4 $P = 0,068$ e 0,75.

Limiar de retirada – região plantar

Na avaliação do limiar de retirada, quando o filamento foi aplicado na superfície plantar novamente o grupo placebo (GPL) apresentou redução significativa do limiar ($P < 0,05$) (fig. 2A). GUS mostrou significativa redução do limiar em AV2 e AV3, ao comparar com AV1, porém em AV4 não havia diferenças, e AV4 foi significativamente maior do que AV2 (fig. 2B), sendo que o comportamento de GL+US foi semelhante (fig.

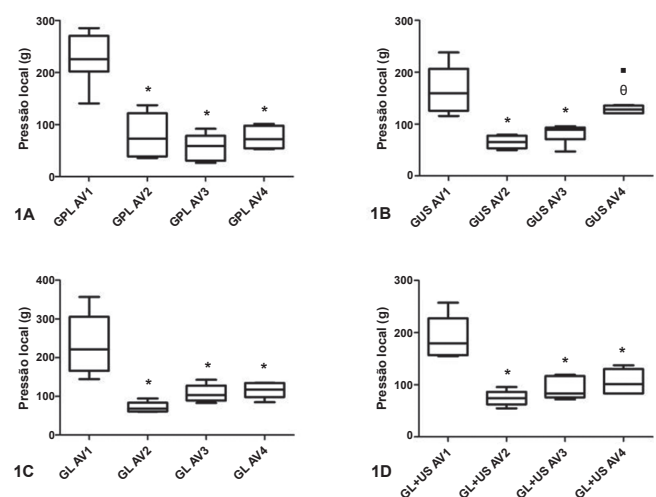


Figura 1 – Gráficos tipo box plot com intervalos interquartis, demonstrativos para os valores observados nas avaliações dos diferentes grupos com respeito ao limiar de retirada do membro quando o filamento foi aplicado na região medial dos joelhos, em diferentes momentos de avaliação (AV1-AV4). 1A – grupo placebo (GPL), 1B – grupo ultrassom (GUS), 1C – grupo laser (GL) e 1D – grupo laser associado ao ultrassom (GL+US). * Diferença significativa ao comparar com AV1. θ Diferença significativa ao comparar com AV2. ■ Diferença significativa ao comparar com AV3.

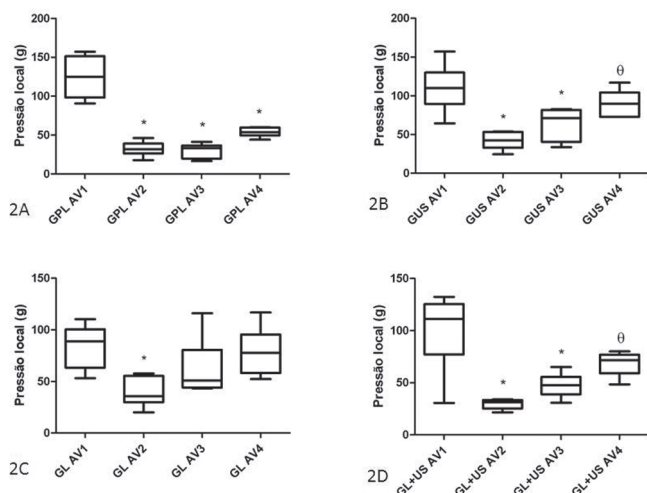


Figura 2 – Gráficos tipo box plot com intervalos interquartis, demonstrativos para os valores observados nas avaliações dos diferentes grupos com respeito ao limiar de retirada do membro quando o filamento foi aplicado na região plantar, em diferentes momentos de avaliação (AV1-AV4). 2A – grupo placebo (GPL), 2B – grupo ultrassom (GUS), 2C – grupo laser (GL) e 2D – grupo laser associado ao ultrassom (GL+US). * Diferença significativa ao comparar com AV1. † Diferença significativa ao comparar com AV2.

2D). Para GL houve redução significativa do limiar apenas ao comparar AV1 com AV2 (fig. 2C).

Nas comparações entre os grupos foi possível vislumbrar novamente diferenças para AV3 e AV4. Em AV3 havia um limiar significativamente menor em GPL ao comparar com GL e GUS ($P < 0,05$); em AV4 só havia diferenças ao comparar GPL com GUS, sendo que este mantinha maior limiar ($P < 0,05$). Novamente não houve diferenças entre os grupos tratados ($P > 0,05$). Na avaliação da homogeneidade das variâncias (teste de Levene) e tamanho do efeito, foi possível observar em AV1 $P = 0,770$ e $0,47$, AV2 $P = 0,138$ e $0,47$, AV3 $P = 0,140$ e $0,62$, e AV4 $P = 0,208$ e $0,69$.

Discussão

O modelo de hiperestesia utilizado, injeção de formalina intra-articular, produz dois períodos de resposta nociceptiva, interpostos por um período de quiescência devido a uma inibição da transmissão nociceptiva por volta do 5º ao 10º minuto¹³. Assim, visando evitar a avaliação em tal período de quiescência decidiu-se que a primeira reavaliação ocorresse após 15 minutos da estimulação química, buscando-se um momento no qual se poderia avaliar de forma mais confiável a nocicepção frente às terapêuticas.

Visto que um dos tratamentos mais comuns para casos de lesões no sistema musculoesquelético é o uso de anti-inflamatórios não hormonais, que apresentam graves efeitos colaterais — como úlceras gastrointestinais e problemas cardiovasculares —, tem aumentado o interesse por outros tratamentos conservadores, como o laser de baixa potência e o ultrassom terapêutico.^{9,18}

Alfredo et al.,¹ avaliando o uso do laser associado a exercícios físicos em indivíduos com osteoartrite do joelho, observaram melhora na dor, na amplitude de movimentos e na funcionalidade, sugerindo como possíveis efeitos do laser atividade anti-inflamatória e modulação endógena da dor via serotonina. A ação anti-inflamatória pode ocorrer por alterações na via ciclooxigenase do metabolismo do ácido aracônico, além de supressão de $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ e fator indutor de hipoxia 1α ($\text{HIF-1}\alpha$);^{2,3,18} outras explicações são a liberação periférica de β -endorfinas¹⁹ e a interrupção da condução nervosa de fibras finas, em razão da formação de varicosidades nos axônios.²⁰ Ao avaliar o limiar de retirada observaram-se sinais de redução da nocicepção apenas quando o estímulo foi aplicado na superfície plantar, com retorno aos valores basais logo na primeira reavaliação após o tratamento, sendo que na comparação entre os grupos em AV3 o limiar era significativamente maior que o do placebo, mas não diferente do grupo tratado com ultrassom. Apesar de na comparação dentro do grupo não ter apresentado resultados benéficos no estímulo sobre o joelho, houve aumento significativo do limiar frente ao placebo tanto em AV3 quanto em AV4.

Segundo Jang e Lee,⁷ apesar de controvérsias o laser de baixa potência apresenta eficácia na redução de dores articulares, o que o torna um instrumento interessante em vista da ausência de efeitos colaterais. Salientam ainda esses autores que um dos grandes problemas no uso do laser é saber qual a dose adequada para cada caso. No presente estudo foram utilizados fluência, comprimento de onda e irradiância, que anteriormente já haviam se mostrado capazes de reduzir a dor articular nesse modelo experimental.²¹

Tascioglu et al.⁹ avaliaram o uso do ultrassom contínuo (1 MHz, 2 W/cm², 5 minutos) ou pulsado (2 W/cm², em ciclo de 20%) durante 10 terapias, em portadores de osteoartrite do joelho. Observaram que apenas o grupo pulsado obteve melhoras significativas na dor e no índice de WOMAC. Relatam que a analgesia produzida pelo ultrassom pode ocorrer pelos efeitos térmicos, que elevam o limiar de dor, e que efeitos não térmicos podem aumentar a permeabilidade da membrana celular e, com isso, o transporte metabólico. No presente estudo houve uma importante redução do quadro nociceptivo nos animais tratados com o ultrassom terapêutico, nos dois locais de avaliação e tanto na comparação dentro quanto entre grupos. Porém, apesar de se ter utilizado a forma contínua, acredita-se que os efeitos terapêuticos não se deveram à hipertermia, pois para que a mesma pudesse ocorrer, além de a dose recomendada ser maior a temperatura tecidual deveria aumentar entre 40 e 45°C durante ao menos 5 minutos.⁸ Uma possível explicação para o efeito analgésico do ultrassom não térmico é que a alteração produzida na permeabilidade da membrana celular pode reduzir a função da bomba de sódio-potássio, dificultando assim a despolarização nervosa e conduzindo a um alívio da dor²². Outra explicação é a redução do óxido nítrico sintase indutível na medula, reduzindo assim sua ação no processamento de dor e inflamação.²³

Segundo Watson,⁸ os efeitos terapêuticos do laser de baixa potência e os do ultrassom terapêutico são similares, sendo que a maior diferença é que a absorção ocorre em diferentes tipos de tecidos, sendo o último absorvido principalmente em locais com tecido colágeno denso. Tal fato pode ter ocorrido no presente estudo, sendo que a cápsula articular pode ter

produzido maior absorção e, consequentemente, os efeitos mais pronunciados para esta modalidade, quando avaliado o limiar de retirada do joelho. De forma concordante, Bakhtiary e Rashidy-Pour¹⁴ relataram melhores resultados para o ultrassom (1 MHz, 1,0 W/cm², pulsado 1:4), no tratamento da síndrome do túnel do carpo de média a moderada, ao comparar com o laser de baixa potência (9 J, 830 nm); diferentes resultados foram observados por Calis, Berberoglu e Calis²⁴ ao compararem as modalidades (ultrassom 3 MHz, 1,5 W/cm²; laser 904 nm, 1 J/cm²) associadas ao exercício físico e compressas quentes em pacientes com síndrome do impacto, em que não observaram vantagens de nenhuma das formas citadas.

De forma contrária ao observado no presente estudo, Charluz et al.,²⁵ em pacientes com dor lombar crônica, observaram vantagens no tratamento com laser de baixa potência com relação à dor, enquanto o ultrassom foi mais eficaz com respeito ao ganho de extensão lombar. Porém, a forma de entrega foi diferente, já que o laser utilizou a forma de cluster de 808 nm, com área de 100 cm², e para o ultrassom utilizou-se 1 MHz, 1 W/cm², por 3 minutos. Rayegani et al.²⁶ também observaram melhores resultados para o laser de baixa potência (880 nm, 39,7 J/cm²) comparado ao ultrassom (1,5 W/cm²), em pacientes com síndrome de dor miofascial. O mesmo foi observado por Demir et al.,²⁷ que ao compararem as técnicas na cura de feridas experimentais em ratos observaram melhores efeitos para o laser (aplicado com 904 nm, 1 J/cm², ao passo que o ultrassom foi utilizado com 0,5 W/cm²) na fase inflamatória e na de proliferação.

Os resultados do presente estudo mostram que no grupo de associação de técnicas, quando avaliada a nocicepção na região plantar, houve aumento do limiar de retirada com restauração de valores prévios após uma hora da indução de hiperestesia, mas não houve melhoras com relação à avaliação do limiar sobre o joelho, e apenas quando comparado em AV4 com o placebo houve aumento do limiar. Assim, infere-se que as terapias utilizadas de forma isolada apresentaram melhores resultados do que a associação das duas técnicas. Tal fato também foi observado por Gum et al.,²⁸ os quais, ao avaliarem os efeitos da associação do laser de baixa potência (904 nm, 1 J/cm²), com o ultrassom terapêutico de 1 MHz (0,5 W/cm²) em coelhos tenotomizados, observaram aumento na síntese de colágeno, porém apenas tendências de melhora nas propriedades biomecânicas dos tendões, fato observado em estudos prévios utilizando os recursos isoladamente. Já Demir et al.,²⁹ observaram melhoras na cura de tendões lesionados de ratos submetidos a tratamento com laser (904 nm, 6 mW, 1 J/cm²), ultrassom (1 MHz, 0,5 W/cm²) ou a combinação das técnicas, sem efeitos cumulativos desta associação.

Assim, infere-se que a associação de técnicas não se mostra benéfica, tanto pelos resultados apresentados aqui quanto pela breve revisão da literatura.

Conclusão

Conclui-se que ambas as modalidades terapêuticas apresentaram efeitos antinociceptivos, sendo que o ultrassom terapêutico foi superior ao laser e à combinação de técnicas, ou seja, esta não apresentou uma possível somação de efeitos.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Alfredo PP, Bjordal JM, Dreyer SH, Meneses SR, Zaguetti G, Ovanessian V et al. Efficacy of low level laser therapy associated with exercises in knee osteoarthritis: a randomized double-blind study. *Clin Rehabil.* 2012;26(6):523-33.
2. Chow RT, Johnson MI, Lopes-Martins RA, Bjordal JM. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *Lancet.* 2009;374(9705):1897-908.
3. Hsieh YL, Chou LW, Chang PL, Yang CC, Kao MJ, Hong CZ. Low-level laser therapy alleviates neuropathic pain and promotes function recovery in rats with chronic constriction injury: possible involvements in hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α). *J Comp Neurol.* 2012;520(13):2903-16.
4. Yan W, Chow R, Armati PJ. Inhibitory effects of visible 650-nm and infrared 808-nm laser irradiation on somatosensory and compound muscle action potentials in rat sciatic nerve: implications for laser-induced analgesia. *J Peripher Nerv Syst.* 2011;16(2):130-5.
5. Artés-Ribas M, Arnabat-Dominguez J, Puigdollers A. Analgesic effect of a low-level laser therapy (830 nm) in early orthodontic treatment. *Lasers Med Sci.* 2012 Jul 21. [Epub ahead of print].
6. Ay S, Doğan SK, Evcik D. Is low-level laser therapy effective in acute or chronic low back pain? *Clin Rheumatol.* 2010;29(8):905-10.
7. Jang H, Lee H. Meta-analysis of pain relief effects by laser irradiation on joint areas. *Photomed Laser Surg.* 2012;30(8):405-17.
8. Watson T. Ultrasound in contemporary physiotherapy practice. *Ultrasonics.* 2008;48(4):321-9.
9. Tascioglu F, Kuzgun S, Armagan O, Ogutler G. Short-term effectiveness of ultrasound therapy in knee osteoarthritis. *J Int Med Res.* 2010;38(4):1233-42.
10. Loyola-Sánchez A, Richardson J, MacIntyre NJ. Efficacy of ultrasound therapy for the management of knee osteoarthritis: a systematic review with meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010;18(9):1117-26.
11. van der Windt DA, van der Heijden GJ, van den Berg SG, ter Riet G, de Winter AF, Bouter LM. Ultrasound therapy for musculoskeletal disorders: a systematic review. *Pain.* 1999;81(3):257-71.
12. Shanks P, Curran M, Fletcher P, Thompson R. The effectiveness of therapeutic ultrasound for musculoskeletal conditions of the lower limb: A literature review. *Foot.* 2010;20(4):133-9.
13. Martins MA, de Castro Bastos L, Tonussi CR. Formalin injection into knee joints of rats: pharmacologic characterization of a deep somatic nociceptive model. *J Pain.* 2006;7(2):100-7.
14. Bakhtiary AH, Rashidy-Pour A. Ultrasound and laser therapy in the treatment of carpal tunnel syndrome. *Aust J Physiother.* 2004;50(3):147-51.
15. Vivancos GG, Verri Jr WA, Cunha TM, Schivo IRS, Parada CA, Cunha FQ, et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37(3):391-9.
16. Bertolini GRF, Silva TS, Ciena AP, Artifon EL. Comparação do ultrassom pulsado e contínuo no reparo tendíneo de ratos. *Fisioter Pesq.* 2012;19(3):242-7.

17. Meireles A, Rocha BP, Rosa CT, Silva LI, Bonfleur ML, Bertolini GRF. Avaliação do papel de opioides endógenos na analgesia do laser de baixa potência, 820 nm, em joelhos de ratos Wistar. *Rev Dor*. 2012;13(2):152-5.
18. Marcos RL, Leal Junior EC, Messias F de M, de Carvalho MH, Pallotta RC, Frigo L, et al. Infrared (810 nm) low-level laser therapy in rat achilles tendinitis: a consistent alternative to drugs. *Photochem Photobiol*. 2011;87(6):1447-52.
19. Hagiwara S, Iwasaka H, Hasegawa A, Noguchi T. Pre-Irradiation of blood by gallium aluminum arsenide (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats. *Anesth Analg*. 2008;107(3):1058-63.
20. Chow RT, David MA, Armati PJ. 830 nm laser irradiation induces varicosity formation, reduces mitochondrial membrane potential and blocks fast axonal flow in small and medium diameter rat dorsal root ganglion neurons: implications for the analgesic effects of 830 nm laser. *J Peripher Nerv Syst*. 2007;12(1):28-39.
21. Bertolini GRF, Matos CMP, Artifon EL, Ferrari D, Vituri RF. Avaliação funcional da nocicepção do joelho de ratos tratada com laser de baixa potência e natação. *Rev Bras Med Esporte*. 2011;17(1):45-8.
22. Dinno MA, Dyson M, Young SR, Mortimer AJ, Hart J, Crum LA. The significance of membrane changes in the safe and effective use of therapeutic and diagnostic ultrasound. *Phys Med Biol*. 1989;34(11):1543-52.
23. Hsieh YL. Effects of ultrasound and diclofenac phonophoresis on inflammatory pain relief: suppression of inducible nitric oxide synthase in arthritic rats. *Phys Ther*. 2006;86(1):39-49.
24. Calis HT, Berberoglu N, Calis M. Are ultrasound, laser and exercise superior to each other in the treatment of subacromial impingement syndrome? A randomized clinical trial. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2011;47(3):375-80.
25. Charluz M, Gasztych J, Irzmanski R, Kujawa J. Comparative analysis of analgesic efficacy of selected physiotherapy methods in low back pain patients. *Ortop Traumatol Rehabil*. 2010;12(3):225-36.
26. Rayegani S, Bahrami M, Samadi B, Sedighipour L, Mokhtarirad M, Eliaspoor D. Comparison of the effects of low energy laser and ultrasound in treatment of shoulder myofascial pain syndrome: a randomized single-blinded clinical trial. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2011;47(3):381-9.
27. Demir H, Yaray S, Kirnap M, Yaray K. Comparison of the effects of laser and ultrasound treatments on experimental wound healing in rats. *J Rehabil Res Dev*. 2004;41(5):721-8.
28. Gum SL, Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Combined ultrasound, electrical stimulation, and laser promote collagen synthesis with moderate changes in tendon biomechanics. *Am J Phys Med Rehabil*. 1997;76(4):288-96.
29. Demir H, Menku P, Kirnap M, Calis M, Ikizceli I. Comparison of the effects of laser, ultrasound, and combined laser + ultrasound treatments in experimental tendon healing. *Lasers Surg Med*. 2004;35(1):84-9.